

**ERYTHROZYTEN - AGGREGOMETRIE UND
BLUTKÖRPERCHENSENKUNGSGESCHWINDIGKEIT (BKS)
NACH WESTERGREN - EIN METHODENVERGLEICH**

DORIS LEEB

1986

AUS DER KINDERKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Vorstand: Prof.Dr.H.B.HADORN

ERYTHROZYTEN-AGGREGOMETRIE UND BLUTKÖRPERCHEN-
SENKUNGSGESCHWINDIGKEIT (BKS) NACH WESTERGREN-
EIN METHODENVERGLEICH

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Doris L E E B

aus

Salzburg

1986

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der
Universität München

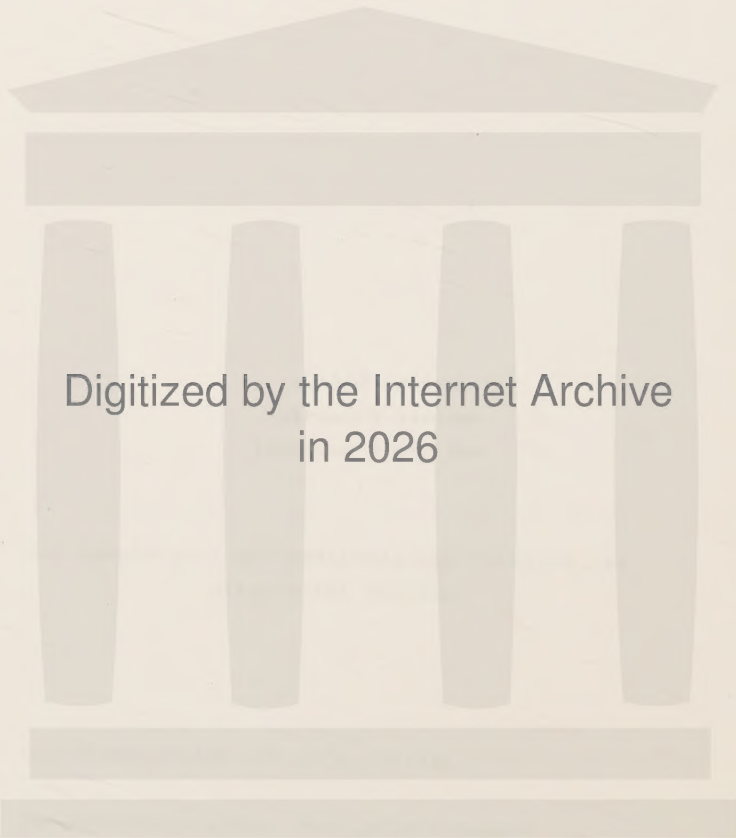
Berichterstatter: PD Dr.H.J.Klose

Mitberichterstatter: Prof.Dr.H.B.Hadorn

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.01.1987

Meinen Eltern,
meiner Schwester
und Alwin gewidmet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554617_0085

A. EINLEITUNG

B. LITERATURÜBERSICHT

C. PROBANDEN- UND PATIENTENGUT, METHODIK

1. Probanden und Patienten, Antikoagulation des Blutes
2. Durchführung der Blutkörperchensenkungs-Geschwindigkeit nach WESTERGREN
3. Bestimmung des Hämatokritwertes
4. Durchführung der Erythrozyten-Aggregometrie
 - 4.1 Beschreibung des Aggregometers
 - 4.2 Durchführung der Aggregationsmessung
5. Statistik

D. VERSUCHSERGEBNISSE

1. Reproduzierbarkeit der Erythrozyten-Aggregationsmessung
2. Einfluß von Lagerungszeit und Lagerungstemperatur auf die Erythrozyten-Aggregation
3. Einfluß des Hämatokritwertes auf die Messung der Erythrozyten-Aggregation
 - 4.1 Antikoagulation mit Natrium-Citrat (1:4)
 - 4.2 Antikoagulation mit EDTA
5. Einfluß von EDTA und Heparin als Antikoagulans im Vergleich zu Natrium-Citrat auf die Messung der Erythrozyten-Aggregation

E. DISKUSSION

F. ZUSAMMENFASSUNG

G. ABBILDUNGEN

H. LITERATURVERZEICHNIS

I. LEBENS LAUF

A. EINLEITUNG

Schon im Altertum war den Ärzten der griechischen Ärzteschulen eine unterschiedliche Reaktion des Blutes beim Absetzen der "roten Anteile" von den "weißen Anteilen" aufgefallen, wenn Gesunde und Kranke verglichen wurden. So wurde die beschleunigte Blutkörperchensenkung (Sedimentierung der "roten Blutanteile") einer der ältesten Indikatoren für eine krankhafte Veränderung im Organismus des Patienten.

Um die Mitte des 19. Jahrhunderts wurde zum ersten Mal eine genauere Beschreibung des Phänomens der beschleunigten Blutkörperchensenkung veröffentlicht (25), gefolgt von einigen ersten Deutungsversuchen der zugrunde liegenden Ursachen (14, 16, 28). Nach gelegentlich publizierten Berichten (3, 13, 40, 4) über experimentelle Untersuchungen zum Phänomen der unterschiedlichen Blutsenkungsgeschwindigkeit begann Anfang der zwanziger Jahre dieses Jahrhunderts die systematische Erforschung der Reaktion der beschleunigten Blutkörperchensenkung durch FÄHRÆUS (7, 8, 9, 10, 11) und WESTERGREN (34, 35, 36, 37, 38, 39).

Die Bestimmung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BKS) fand schnell Eingang in die Routineuntersuchungen des Blutes, da sie als ein wertvolles Kriterium für Diagnose und Verlauf vieler Erkrankungen erkannt wurde. Als Standardmethode hatte sich bald die Bestimmung der BKS nach WESTERGREN etabliert. Dennoch suchte man bis zur heutigen Zeit immer wieder nach alternativen Verfahren, die vor allem die Forderungen nach einfacherer Gewinnung des Blutes, geringerer Blutprobenmenge und kürzerer Ablesezeiten erfüllen sollten. Aus pädiatrischer Sicht war schon immer die Entwicklung einer Mikro-BKS-Methode wünschenswert. Keine der entwickelten Mikro-BKS-Methoden konnte sich bislang jedoch als Standard-Methode wie die WESTERGREN

BKS in der Routine-Hämatologie etablieren. Es schien daher gerechtfertigt zu überprüfen, ob eine Mikro-Schnellmethode zur Erfassung der Erythrozyten-Aggregation auf photometrischem Wege eine alternative und brauchbare Methode im Vergleich zur BKS-Bestimmung nach WESTERGREN sein kann. Zugrunde liegt dieser Fragestellung die Erkenntnis, daß eine unterschiedliche Proteinzusammensetzung die Aggregationstendenz der Erythrozyten maßgeblich bestimmt. Andererseits ist diese Aggregations-tendenz der Erythrozyten ein wesentlicher mitbestimmender Faktor für die Blutsenkungsgeschwindigkeit.

In der vorliegenden Untersuchung wurden aus identischen Blutproben sowohl die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nach WESTERGREN als auch die photometrische Bestimmung der Erythrozyten-Aggregatbildung bestimmt. Darüber hinaus wurde der Einfluß einiger wesentlicher physikalisch-chemischer Parameter auf die Meßergebnisse überprüft. Die Ergebnisse der Untersuchungen mit beiden Methoden werden gegenübergestellt und diskutiert.

B. LITERATURÜBERSICHT

Im Jahre 1836 erwähnte NASSE zum ersten Mal das Phänomen der beschleunigten Erythrozytensenkung (25). Das Erkennen der Bedeutung dieses Phänomens und die Erarbeitung eines Verfahrens zu dessen Anwendung in der Praxis geht jedoch auf FÄHRÆUS (7,8,9,10,11) und WESTERGREN (34,35,36,37,38,39) zurück, dessen BKS-Methode auch heute noch in unveränderter Form angewandt wird. Nachteilig bei dieser Methode sind die relativ große Blutprobenmenge (fast 2 ml), die Notwendigkeit einer exakten Antikoagulation mit Natrium-Citrat, eine umständliche Blutgewinnung (Venenpunktion), sowie lange Ablesezeit bis zum Endergebnis (zwei Stunden).

Der erste Vorschlag zu einer Verbesserung in Richtung einfacherer Blutgewinnung und geringerer Blutprobenmenge erfolgte 1925 durch LINZENMEIER (20): Er verwendete eine Glaskapillare von 270 mm Länge, für die er nur 1-2 Tropfen Blut aus der Fingerbeere benötigte, das mit 5 %-iger Natrium-Citrat-Lösung ungerinnbar gemacht wurde. Bei senkrechter Aufstellung der Kapillare wurde die Länge der Blutkörperchen-Säule nach einer Stunde abgelesen.

LANDAU (18) variierte 1933 die LINZENMEIER-Technik dahingehend, daß er nur noch 120 mm lange Glasröhrchen verwendete, die mit einer Rückschlag-Spritze als Hilfe für ein leichteres Aufziehen des Blutes verbunden war.

1934 verbesserte LINZENMEIER mit EYER seine eigene Kapillarmethode und empfahl eine schräge Mikrosenkung (21): Die Blut-senkungskapillare wurde mit einem Winkel von 60° aufgestellt und die Höhe der Blutkörperchen-Säule bereits nach zehn Minuten abgelesen. Der Vergleich mit der Makrosenkung nach WESTERGREN mit der vertikalen, bzw. schrägen Mikrosenkung ergab zwar

keine überzeugenden Korrelationen zwischen den einzelnen Methoden, LINZENMEIER und EYER vertraten jedoch die Meinung, daß die schräge Mikrosenkung durchaus als schnelle Orientierungshilfe anwendbar ist.

STEIN stellte 1949 eine Verbesserung des WESTERGREN'schen Ständers für die Blutkörperchensenkungs - Röhrchen vor (30): Durch einen selbsttätig abschließenden Ventilkorken, durch den man das mit Natrium - Citrat vermischte Blut direkt in die WESTERGREN-Pipetten einspritzen konnte, wurde das umständliche und unhygienische Aufsaugen mit dem Mund umgangen. Gleichzeitig entwickelte er eine Makro-Schnellsenkungs-Methode: Nach Kippen der Röhrchen um 60° wurden nach sieben Minuten ein "1-Stunden-Wert" und nach weiteren drei Minuten ein "2-Stunden-Wert" als Äquivalenzwerte zur BKS-Methode nach WESTERGREN abgelesen. STEIN war sich bewußt, daß diese Werte nur mäßig mit der Original - Methode nach WESTERGREN übereinstimmten, stellte aber fest, daß immerhin bei gesunden Versuchspersonen die Genauigkeit bei der schrägen Schnellsenkungs-Methode der Genauigkeit von bisherigen senkrechten BKS-Methoden nicht nachstand.

Im Jahre 1957 beschrieben WASHBURN und MEYERS eine Versuchsreihe, in der Schnellsenkungen, mit verschiedenen Winkeln zur Senkrechten gekippt, untersucht wurden (33). Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, daß einer BKS-Methode mit einem 45° - Winkel der Vorzug zu geben wäre, da sie die schnellsten (innerhalb von 15, bzw. 30 Minuten), zuverlässigsten und am besten reproduzierbaren Ergebnisse erbrachte. Durch Multiplikationen der 45° -BKS-Werte mit dem Hämatokrit-Wert (in %) ermittelten sie einen Faktor, mit dessen Hilfe ein Nomogramm zur Umrechnung auf vertikale BKS-Werte erstellt werden konnte.

Von MATLIEFF wurde 1961 ein BKS-Verfahren angegeben, bei dem die BKS-Röhrchen mit der Ebene einen Winkel von 17° bildeten und die Ablesezeiten nur noch 5, bzw. 10 Minuten betragen (22).

Die so erhaltenen Werte stimmten mit denen der mit der WESTERGREN-Methode erzielten Werte überein.

Dies widerlegte ABENDROTH, der 1965 in einer Versuchsreihe hundert BKS-Werte nach der MATLIEFF- und der TAEUBNER-Methode (30°-Kippung, 32) mit der WESTERGREN-Vertikal-BKS-Technik verglich: Er kam zu dem Schluß, daß die Abweichungen bei beiden BKS-Verfahren zu groß sind, um als Verbesserung der bisherigen BKS-Methode nach WESTERGREN anerkannt werden zu können (1).

1967 veröffentlichten LEMTIS und SCHOETENSACK die Ergebnisse einer Untersuchung über die STEIN'sche Variation der WESTERGREN'schen BKS-Methode (19). Sie wiesen damit nach, daß die BKS-Werte bei dieser Methoden-Variation nur in 3 bis 10 % mit denen der Originalmethode nach WESTERGREN übereinstimmen und lehnten dieses Verfahren aus diesem Grunde sowohl als Ersatz der Standardmethode, als auch als rasche Orientierungsmethode ab.

EVANS et al. wandten die Mikro-BKS-Methode von LANDAU bei Neugeborenen an, um einen rascheren Hinweis auf systemische Infektionen zu erhalten. 1970 veröffentlichten sie eine Studie mit dem Ergebnis einer sehr engen Korrelation der Mikro-BKS-Werte mit den WESTERGREN-Werten in einem Bereich bis zu 15 mm pro Stunde (6). Über dieser Grenze liegende Werte korrelierten progressiv mit höheren WESTERGREN-Werten. Sie empfahlen die Anwendung der LANDAU'schen Mikro-BKS-Methode speziell für Neugeborene.

Eine neue Mikro-BKS-Technik zur Diagnostik von neonataler Sepsis wurden 1980 von PARIDA et al. vorgestellt (26). Sie verwendeten standardisierte heparinisierte Mikrohämatokrit-Röhrchen, die mit durch Lanzettenstich gewonnenem Kapillarblut gefüllt wurden. Bei vertikaler Fixierung wurde der Erythrozytenabfall nach einer Stunde in Millimetern gemessen. Werte von 0 - 8 Millimeter zeigten mit 95 %-iger Sicherheit Normalität

an. 74,4% der wirklich und 24 % der scheinbar an neonataler Sepsis erkrankten Neugeborenen hatten höhere Werte. Daher empfohlen PARIDA et al. diese sehr einfache Methode für Neugeborenen Stationen, besonders dann, wenn keine bakteriologischen Untersuchungsmöglichkeiten gegeben sind.

Ebenfalls 1980 veröffentlichten IBSEN et al. die Ergebnisse einer Untersuchung an 200 Neugeborenen (15): 75 mm lange heparinisierte Mikrohämatokrit - Röhrchen wurden wie bei PARIDA et al. mit Kapillarblut gefüllt, vertikal aufgestellt und ebenfalls nach einer Stunde die Distanz von der Spitze des Röhrchens bis zum Meniskus der Blutkörperchen-Säule in mm gemessen. Im Gegensatz zu PARIDA kamen sie jedoch zu dem Ergebnis, daß diese Art der Mikro-BKS-Bestimmung zu unzuverlässig wäre, um als früher Indikator für neonatale Infektionen verwendet werden zu können, da zwar erhöhte Werte auf eine Infektion hinwiesen, normale Werte aber eine Infektion nicht ausschließen könnten.

Auch MOODLEY untersuchte die Möglichkeit einer Mikro-Senkung mit Hilfe von Mikrohämatokrit-Röhrchen (23,24). Er verwendete 100 mm lange heparinisierte Kapillaren, die bis zu einer Marke bei 75 mm mit Blut gefüllt und nach Verschuß einer Seite vertikal aufgestellt wurden. Ähnlich wie bei IBSEN et al. wurde die Strecke zwischen 75-mm-Markierung und Erythrozytenmeniskus abgemessen und in mm angegeben. MOODLEY führte 1981 diese Studie unter drei Aspekten durch: Einmal verglich er die Mikro-Senkung mit der Makro-Senkung nach WINTROBE und LANDSBERG (41) sowohl mit Blut von gesunden als auch kranken Erwachsenen, sowie von Neugeborenen. Zum zweiten untersuchte er Anstieg und Abfall der Werte in Verbindung mit der Anzahl der Lebensstage und dementsprechend unterschiedlichen Hämatokrit-Werten bei Neugeborenen. Zum dritten überprüfte er den Wert dieser Mikro-Senkungs-Methode als frühen Indikator von Neugeborenen-Infektionen. Als wesentliches Ergebnis seiner Untersuchungen fand er im Gegensatz zu IBSEN et al., daß jeder Pati-

ent mit einer nachgewiesenen Infektion auch erhöhte Mikro -
Senkungs - Werte hatte. Er empfahl daher diesen einfachen,
schnellen und billigen Test vor allem als eine hilfreiche
Unterstützung zur Diagnose der Neugeborenen-Infektion.

C. PROBANDEN- UND PATIENTENGUT, METHODIK

1. Probanden und Patienten, Antikoagulation des Blutes

Untersucht wurden venöse Blutproben von freiwilligen Erwachsenen (Klinikangehörigen) und von Kindern ab dem 3. Lebensmonat bis zum Adoleszentenalter. Dabei handelte es sich sowohl um gesunde Kinder, bei denen aus verschiedenen Gründen im Rahmen einer allgemeinen Untersuchung Blut zur BKS-Bestimmung entnommen wurde, als auch um ambulante und stationäre Patienten der Universitäts-Kinderklinik mit verschiedenen Grunderkrankungen. Die Gesamtzahl der untersuchten Blutproben betrug 241. Die venös entnommenen Blutproben wurden durch Vorlage von 3,8 % Natrium-Citrat im Verhältnis 1 Teil Citrat : 4 Teile Blut ungerinnbar gemacht. In besonderen Meßreihen wurde statt Natrium-Citrat EDTA (vorgefertigte klinikübliche Plastikröhrchen mit pulverisiertem EDTA, Fa. SARSTAEDT), bzw. Heparin (1 Tropfen Liquemin (R), Fa. ROCHE, auf 2-5 ml Vollblut in Plastikröhrchen) als Antikoagulans verwendet.

2. Durchführung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nach WESTERGREN

In eine 2 ml-Plastikspritze werden 0,4 ml einer 3 %-igen, sterilen Natrium-Citrat-Lösung aufgezogen, anschließend wird die Plastikspritze exakt bis zur 2 ml-Marke mit frisch venös punktiertem Blut aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wird der Spritzeninhalt in eine gläserne Sedimentierungspipette mit Millimeter-Einteilung gedrückt, die in senkrechter Stellung in einem dafür vorgesehenen Gestell befestigt wird. Die Länge der Plasmasäule über den sedimentierten zellulären Anteilen des Blutes - vornehmlich Erythrozyten - in mm wird nach einer, bzw.

zwei Stunden abgelesen und als Blutkörperchen - Senkungs-Wert (BKS-Wert) angegeben.

3. Bestimmung des Hämatokritwertes

In einer kliniküblichen Mikrohämatokrit - Zentrifuge wurde in 10 mm-Kapillaren, die einseitig mit Kitt verschlossen wurden, in jeder untersuchten Blutprobe durch schnelle Zentrifugation (ca. 12 000 g) für 5 Minuten der Hämatokritwert bestimmt.

4. Durchführung der Erythrozyten-Aggregometrie

4.1 Beschreibung des Aggregometers

Das verwendete Gerät ist das vollautomatische Erythrozyten-Aggregometer der Fa. MYRENNE (Roetgen, BRD), Typ MA 1. Dieses Gerät ist eine miniaturisierte Weiterentwicklung des 1972 von KLOSE et al. (18) beschriebenen Erythrozyten-Aggregometers, mit dem unter definierten Strömungsbedingungen eine strömungsabhängige Erythrozyten-Aggregatbildung photometrisch erfaßt werden kann. Neben der Miniaturisierung der Gerätedimension, die letztlich eine Messung der Aggregation aus einer 20 µl-Blutprobe ermöglicht, ist das Gerät im Vergleich zum Prototyp vor allem elektronisch verbessert.

Das Aggregometer besteht aus einer photometrischen Meßkammer, wobei der Spalt zwischen einem aus transparentem Plexiglas gefertigten Platte-Kegel-Strömungssystem als Kuvette dient. In dem Platte-Kegel-System beträgt der Kegelwinkel 2°, der Scher-

grad beträgt 600 sec⁻¹. Der Meßbereich des Photometers liegt im Infrarotbereich. Die photometrische Quantifizierung erfolgt über eine Mikroprozessor-kontrollierte Steuer- und Rechneinheit. Die Zentraleinheit der Elektronik ist ein 8-BIT-Mikroprozessor, der seine Meßwerte von einem 12-BIT A/D-Umsetzer erhält. Für den kontrollierten Prozeßablauf sorgen ein 4 kbyte Programm und ein Datenspeicher. Das Gerät zeigt digital das Meßergebnis als mittleres Ausmaß der Erythrozyten-Aggregation an.

4.2 Durchführung der Aggregationsmessung

Bei geschlossener, noch nicht mit der Blutprobe beschichteten Strömungs-Meßkammer wird per Tastendruck das Photometer abgeglichen. Dabei wird die Grundtransmission der Meßkammer erfaßt, berechnet und gespeichert. Anschließend werden die Meßkammer geöffnet und ca. 20 µl der zu untersuchenden Blutprobe mit einer Glaskapillare blasenfrei auf die Kegelspitze aufgebracht. Mit anschließendem Verschuß der Meßkammer wird ein durchsichtiger Objektträger (entsprechend der Platte im Platte-Kegel-Strömungssystem) auf die Kegelspitze von oben her aufgelegt. Per Tastendruck wird der Kegel für 10 sec in Rotation versetzt. Aus dem Kegelwinkel und der Umdrehungsgeschwindigkeit des Kegels resultiert ein Schergrad von 600 sec⁻¹ bei der Scherung der Blutprobe. Durch die Scherung liegen die Erythrozyten während der Strömung als einzelne Partikel ohne Aggregatbildung vor. Daraus resultiert nach KLOSE et al. eine minimale Lichttransmission (18). Nach 10 sec Strömung erfolgt mit Ende der Scherung Aggregatbildung der Erythrozyten, die sich in rascher, asymptotischer Transmissionserhöhung erfassen läßt. Diese Aggregationskinetik wird in ihrem mittleren Ausmaß berechnet und digital angezeigt. Der gesamte Meßvorgang benötigt ca. 15 sec. Jede Blutprobe wurde dreifach gemessen und aus den 3 Werten der Mittelwert gebildet.

5. Statistik

Die Korrelationsprüfung zwischen den verwendeten Methoden erfolgte durch lineare Regressionsanalyse.

D. VERSUCHSERGEBNISSE

1. Reproduzierbarkeit der Erythrozyten-Aggregationsmessung

Vor den eigentlichen vergleichenden Untersuchungen wurden Versuche zur Klärung der Reproduzierbarkeit der Erythrozyten-Aggregationsmessung an 15 Blutproben mit unterschiedlich hohen BKS-Ausgangswerten (nach WESTERGREN) durchgeführt. Innerhalb von ca. 20 Minuten wurde in 2-Minuten-Abständen 20 μ l Blut neu in die Meßkammer eingefüllt, so daß 10 Bestimmungen resultierten. Wie oben angegeben, wurde jede Messung als Dreifachmessung aus einer 20 μ l-Blutprobe vorgenommen.

In Abb. 1 sind als Funktion der (Untersuchungs-)Zeit folgende Parameter dargestellt: Die absolute Abweichung vom mittleren Aggregationswert (durchgezogene Linie) aus 10 Messungen. Pro Meßzeitpunkt ist die Abweichung je nach Lage zum Mittelwert nach oben, bzw. unten eingetragen. In einer Spalte rechts von den durchgezogenen Linien ist die mittlere prozentuale Standard-Abweichung vom Aggregations-Mittelwert aus allen 10 Messungen aufgeführt. In der Spalte ganz rechts sind für jede Ausgangsblutprobe die BKS-Werte nach WESTERGREN (1- und 2-Stundenwert) angegeben.

Als Ergebnis dieser Meßreihe kann festgehalten werden: Bei wiederholten Aggregationsmessungen einer Ausgangsblutprobe liegen unabhängig vom absoluten Aggregationswert die Abweichungen vom Mittelwert maximal bei 2,5 Skalenteilen. Prozentual bedeutet dies bei sehr niedrigen Aggregationswerten (normale, nicht pathologische Aggregation der Erythrozyten) hohe prozentuale Abweichungen. Mit zunehmend stärkerer Erythrozytenaggregation (über 10 Skalenteile) liegen die prozentualen

Standardabweichungen zwischen 2,8 und 10,5 %. Dies bedeutet eine sehr gute Reproduzierbarkeit, die sich im Bereich von anderen Routine-Labormethoden bewegt.

2. Einfluß von Lagerungszeit und Lagerungstemperatur auf die Erythrozytenaggregation

In einer weiteren Meßreihe wurde in 7 Blutproben mit unterschiedlicher Ausgangsaggregation der Einfluß einer Lagerung der Blutproben von 30 Minuten bis zu 4 1/2 Stunden nach Blutentnahme sowohl bei Raumtemperatur (21°C) als auch bei Kühlschranktemperatur (+4°C) überprüft. In Abb. 2 sind die Aggregationswerte als Funktion der Lagerungszeit aufgetragen. Die Messungen wurden alle 30 Minuten vorgenommen. In der Graphik entsprechen die offenen Symbole, verbunden mit gestrichelter Linie den Meßwerten bei Raumtemperatur; die geschlossenen Symbole verbunden mit durchgezogener Linie entsprechen den Meßwerten bei Kühlschranktemperatur der gleichen Blutprobe.

Aus der Abbildung ist deutlich ersichtlich, daß Lagerung der Blutproben von mehr als 90 Minuten unabhängig vom Aggregationsausgangswert zu gesteigerter Erythrozytenaggregation führt. Auffallend gering ist die lagerungszeitabhängige Aggregationssteigerung bei den beiden Blutproben mit den höchsten Aggregationsausgangswerten. Wie aus der Darstellung hervorgeht, finden sich in den dargestellten Versuchen keine systematischen Unterschiede des Erythrozyten-Aggregationsverhaltens zwischen 4°- und 21°-Lagerungstemperatur. Diese Ergebnisse führten für weitere Versuche dazu, daß die Aggregationsmessungen innerhalb 90 Minuten nach Blutentnahme durchgeführt wurden - falls nicht anders erwähnt - und die Blutproben jeweils bei Zimmertemperatur bis zur Messung gelagert wurden.

3. Einfluß des Hämatokritwertes auf die Messung der Erythrozyten-Aggregation

Für diese eigens durchgeführte Meßreihe wurde 5 freiwilligen Probanden eine größere Menge (10 ml) Blut entnommen. Nach Bestimmung des Hämatokritwertes des frisch entnommenen natriumcitrat antikoagulierten Blutes wurden durch laborübliche Zentrifugation Erythrozyten und Plasma getrennt. Anschließend wurden durch Mischung von Plasma und Erythrozyten in geeignetem Verhältnis aus jeder Ausgangsblutprobe Proben mit verschiedenen Hämatokritwerten zwischen 20 und 50 % hergestellt. Die Abweichungen lagen bei ± 2 %. Die Erythrozyten-Aggregationswerte sind in Abb. 3 als Funktion der Hämatokritwerte dargestellt. Zu jeder Meßreihe (entsprechend einem Probanden) sind die BKS-Werte nach WESTERGREN und der Hämatokritwert des antikoagulierten Nativblutes angegeben. In der Darstellung sind von unten nach oben entsprechend steigender BKS-Werte die 5 Meßreihen einzeln dargestellt.

Aus den 5 Kurvenverläufen läßt sich unschwer erkennen:

1. In jedem der Versuche verändert sich die Erythrozyten-Aggregatbildung mit dem eingestellten Hämatokritwert.
2. In 4 von 5 Versuchen werden die höchsten Aggregationswerte bei Hämatokritwerten zwischen 25 und 40 % gefunden (Ausnahme: mittlere Versuchsreihe).
3. Je höher die BKS-Werte, desto höher scheinen die maximalen Aggregationswerte zu liegen (obere beiden Verläufe mit eindeutig pathologischen BKS-Werten).
4. Bei niedrigen Aggregationswerten (< 12 Skalenteile, untere 3 Verläufe) wird maximale Erythrozyten-Aggregation immer

bei Hämatokritwerten von weniger als 35 % gefunden.

5. Bei höheren Aggregationswerten (> 12 Skalenteile, obere 2 Verläufe), bei diesen Probanden korrelierend mit pathologisch erhöhten BKS-Werten, findet sich maximale Erythrozyten-Aggregation bei einem Hämatokritwert von 40 %. Zwischen Hämatokritwerten von 30 % und 40 - 45 % scheint ein "Bereich maximaler Erythrozyten-Aggregation" vorzuliegen.

4. Vergleich der Meßergebnisse der BKS-Bestimmung nach WESTERGREN mit der Erythrozyten-Aggregationsmessung.

4.1 Antikoagulation mit Natrium-Citrat (1:4)

Die entscheidende Fragestellung einer Korrelation zwischen BKS-Methode und der Erythrozyten-Aggregationsmessung wurde an insgesamt 183 identischen natrium-citrat-antikoagulierten Blutproben überprüft. Dabei wurden sowohl der 1-Stunden- als auch der 2-Stunden-BKS-Wert den Werten der Aggregationsmessung gegenübergestellt. Da nach den vorliegenden Messungen (siehe Seite 14 f) der Hämatokritwert die Aggregationsmessung beeinflusst - ähnliches gilt für die WESTERGREN-Methode (Beispiel: schwere Anämie) - wurde eine willkürliche Einteilung der untersuchten Blutproben nach Hämatokritbereichen vorgenommen. In Abb. 4 sind (links) als Funktion des 1-Stunden-BKS-Wertes und (rechts) als Funktion des 2-Stunden-BKS-Wertes die Erythrozyten-Aggregationswerte dargestellt. Die Unterteilung in Hämatokritbereiche ergab 4 Gruppen um 20, 25, 30 und 35 % Hämatokrit der zu untersuchenden Probe.

Wie aus der Abbildung zu entnehmen ist, resultieren folgende Fakten:

1. Die Korrelation 1-Stunden-BKS-Wert zur Aggregationsbildung der Erythrozyten bewegt sich zwischen $r=0,76$ und $r=0,90$, wobei mit $r=0,76$ bei Hämatokritwerten um 35 % die Korrelation unzureichend ist.
2. Die Korrelation 2-Stunden-BKS-Wert zur Aggregationsbildung bewegt sich zwischen $r=0,83$ und $r=0,92$ in allen untersuchten Hämatokritbereichen und ist damit deutlich besser als die 1-Stunden-BKS-Wert-Korrelation.

4.2 Antikoagulation mit EDTA

In dieser Meßreihe wurde bei insgesamt 85 Probanden der 1-Stunden-BKS-Wert mit einer Aggregationsmessung aus nicht Natrium-Citrat-, sondern EDTA-antikoaguliertem Blut verglichen. Da bei EDTA-Antikoagulation keine Hämatokrit-Abnahme wie bei Citrat-Antikoagulation durch Verdünnung der Blutprobe stattfindet, liegen die Hämatokritwerte entsprechend höher. Das Ergebnis bezüglich der Korrelation zwischen beiden Methoden ist unzureichend: In der Hämatokritgruppe (jeweils EDTA-Blut) von $35 \% \pm 2$ ($n=8$) findet sich $r = -0,15$; bei Hämatokritwerten von $40 \% \pm 2$ ($n=53$) findet sich $r=0,59$; bei Hämatokritwerten von $45 \% \pm 2$ ($n=8$) beträgt $r=0,11$ (nicht dargestellt). Somit besteht keinerlei Korrelation zwischen 1-Stunden-BKS-Wert nach WESTERGREN und der Erythrozyten-Aggregation in EDTA-antikoaguliertem Vollblut unter den gegebenen Meßbedingungen.

5. Einfluß von EDTA und Heparin als Antikoagulans im Vergleich zu Natrium-Citrat auf die Messung der Erythrozyten-Aggregation

An 9 gesunden Probanden mit normalen BKS-Werten wurde die Erythrozyten-Aggregation in EDTA-, bzw. Heparin-antikoaguliertem Blut im Vergleich zu Natrium-Citrat-antikoaguliertem Blut gemessen. In dieser Vergleichsmessung wurde erneut der Effekt einer längeren Lagerung der jeweiligen Blutprobe (3 Stunden) bei verschiedener Lagerungstemperatur (4°C, 21°C) geprüft. In Abb. 5 sind bei 4°C (linker Abbildungsteil) und bei Raumtemperatur von 21°C (rechter Abbildungsteil) jeweils als Wertepaare die Aggregationswerte direkt nach Blutentnahme und nach 3-stündiger Lagerung dargestellt. Die mittleren Hämatokritwerte für Natrium-Citrat-antikoaguliertes Blut (C), EDTA-antikoaguliertes Blut (E) und Heparin-antikoaguliertes Blut (H) sind ebenfalls angeführt.

Als Ergebnis kann festgehalten werden: Im Citratblut wird ein erheblich niedrigerer Hämatokritwert als im EDTA-, bzw. Heparinblut gemessen. Dies ist durch die Verdünnung der Blutprobe mit Natrium-Citrat-Lösung (4:1) erklärt. Erythrozyten-Aggregationswerte in EDTA-Blut liegen erheblich höher als die Citratblutwerte. Noch deutlich höhere Aggregationswerte finden sich in Heparinblut bei praktisch identischem Hämatokritwert verglichen zu EDTA-Blut. Unabhängig von Antikoagulans und Lagerungstemperatur bedeutet Lagerung der Blutprobe für 3 Stunden erhöhte Erythrozyten-Aggregation mit Ausnahme des kühl-schrank-gelagerten Heparinblutes.

E. DISKUSSION

Die erhobenen Befunde der vorgelegten vergleichenden Untersuchung der Erythrozyten-Aggregationsbestimmung mit der WESTERGREN'schen BKS-Methode werden vornehmlich unter dem Aspekt der Praktikabilität im pädiatrischen Patientengut diskutiert. Hierbei wird kritisch beleuchtet, ob die WESTERGREN'sche BKS-Methode mit den bekannten Nachteilen (große Blutprobenvolumina, Notwendigkeit der venösen Blutentnahme, relativ lange Bestimmungsdauer, Verfälschung der Meßergebnisse bei extrem hohen oder extrem niedrigen Hämatokrit-Werten) durch die hier vorgestellte Erythrozyten-Aggregationsmessung mit offensichtlichen Vorteilen (geringe Blutprobenmenge, somit eventuelle Verwendbarkeit von Kapillarblut, kurze Meßzeit) ersetzt werden kann. Dabei wird zusätzlich diskutiert, ob etwaige Modifikationen der Aggregationsmethode die Praktikabilität, die Aussagekraft der Methode, die Vergleichbarkeit mit der BKS-Bestimmung nach WESTERGREN verbessern können, bzw. unter normalen oder speziellen Bedingungen (Früh- oder Neugeborene, Patienten mit schwerer Anämie) auf Kosten der Praktikabilität in Kauf genommen werden müssen.

Bezüglich der Reproduzierbarkeit der Meßwerte bei der Aggregationsmethode können die Ergebnisse als voll befriedigend gewertet werden. Wie bei WESTERGREN (35,38) findet sich im nicht pathologischen Bereich (gesunde Probanden) eine erhebliche Streuung, im pathologischen Bereich wird sie sehr gering. Zu dieser Kongruenz muß angemerkt werden, daß beide Methoden zwar die Aggregationstendenz von Erythrozyten auf Grund der Eiweißzusammensetzung, speziell der Akut-Phasen-Proteine, erfassen (17), bei beiden Methoden jedoch auch andere Parameter die Messung beeinflussen können. Bei der WESTERGREN'schen BKS-Messung sind dies vor allem Plasmaviskosität, Hämatokrit-Wert, Adhäsionskräfte an der Glaskapillare, bei der Erythro-

zyten-Aggregations-Messung neben dem Hämatokritwert das Verformbarkeitsvermögen der einzelnen Erythrozyten (17). Daß bei beiden Meßmethoden im pathologischen Bereich gleichsinnig eine verbesserte Reproduzierbarkeit resultiert, kann dahingehend interpretiert werden, daß im pathologischen BKS-Bereich auch bei der WESTERGREN-Methode vor allen anderen Parametern die gesteigerte Aggregationstendenz der Erythrozyten erfaßt wird, die dann zu einer beschleunigten Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit führt.

Bezüglich des Einflusses von Lagerungszeit und Lagerungstemperatur der zu messenden Blutproben ergab sich zunächst - unabhängig von der Lagerungstemperatur - eine gesteigerte Erythrozyten-Aggregation, die sich innerhalb 1 1/2 Stunden jedoch kaum auswirkte. Unter dem Aspekt der Praktikabilität in Klinik und pädiatrischer Praxis, wo erfahrungsgemäß zwischen Blutentnahme und Messung (auch der BKS nach WESTERGREN) immer Verzögerungen auftreten können, ist dieses Ergebnis als durchaus befriedigend zu werten. Zusätzlich wichtig ist in dieser Hinsicht, daß Lagerung bei Kühlschranktemperatur keine prinzipiell anderen Meßbefunde liefert.

Der Erythrozytenanteil der Blutprobe (Hämatokrit-Wert) muß in einer photometrischen Meßanordnung, in der Transmission, Reflexion, Beugung und Streuung durch die Anwesenheit zellulärer Elemente in die Messung eingehen, einen Einfluß auf die Größe des Meßwertes bei der Aggregations-Messung haben. Grundsätzlich war zu klären, ob systematische Veränderungen der Aggregationswerte mit Variation des Erythrozytenanteiles auftreten. Darüber hinaus war wichtig, das Ausmaß eventueller Veränderungen in Abhängigkeit vom Hämatokritwert zu erfassen und vor allem zu prüfen, ob diese eventuellen Veränderungen im Bereich normaler Erythrozyten-Aggregation (willkürlich angenommen: < 12 Skt) und normaler BKS-Werte nach WESTERGREN (1-Std-Wert: < 18 , 2-Std-Wert: < 35) die Aggregationsmeßwerte in gleicher Weise beeinflussen wie im pathologischen Aggrega-

tions-, bzw. BKS-Bereich. In dieser stichprobenartig durchgeführten Prüfung wurde der erwartete Einfluß des Hämatokrit-Wertes auf die Aggregationsmessung bestätigt gefunden. Besonders bemerkenswert ist der Befund abnehmender Erythrozyten-Aggregation bei Hämatokrit-Werten über 40% in allen 5 Messungen. Dies kann bedeuten, daß über den "Normbereich" gesteigerte Erythrozyten-Aggregation bei hohen Hämatokrit-Werten (z.B. Früh- und Neugeborene) fälschlicherweise als normal gemessen wird. Aus dem Befund, daß die maximalen Erythrozyten-Aggregationswerte in einem Hämatokrit-Bereich von 25 % - 40 % erhalten wurden, läßt sich folgen, daß die Methode bei Hämatokrit-Werten von weniger als 25 % und mehr als 40 % weniger sensitiv wird.

Die Vergleichende Untersuchung von Erythrozyten-Aggregationsmessung und BKS-Bestimmung nach WESTERGREN zeigte zunächst, daß von den insgesamt 183 parallel untersuchten Natrium - Citrat - antikoagulierten Blutproben mehr als die Hälfte einen Hämatokritwert um 30 % aufwiesen. Diese Blutproben zeigten auch die absolut höchsten Erythrozyten-Aggregationswerte bei hohen BKS-Werten im Vergleich zu den anderen Hämatokrit-Bereichen. Hiermit wurden die aus dem oben besprochenen Ergebnis der Versuche mit experimenteller Variation des Hämatokrits, nämlich einer optimalen Sensitivität der Methode zwischen 25 % und 40 % mit großen n-Zahlen bekräftigt. Die Korrelation beider Methoden im Hämatokritbereich um 30 % war sowohl für den 1-Std-BKS-Wert als auch für den 2-Std-BKS-Wert mit 0,8 , bzw. 0,83 befriedigend. Noch bessere Korrelationen fanden sich bei den Blutproben mit Hämatokritwerten um 25 %, allerdings müssen geringere absolute Aggregationswerte - somit Sensitivitätsverlust der Methode - in Kauf genommen werden. Besonders unempfindlich war die Erythrozyten-Aggregationsmessung bei Hämatokritwerten um 20 % bei allerdings sehr guter Korrelation. Da bei Hämatokritwerten um 35 % die Korrelation für die 1-Std-BKS-Werte mit 0,76 unbefriedigend war, kommt als idealer Hämatokrit-Bereich für die Messung der Erythrozyten-Aggregation

in Natrium - Citrat - antikoaguliertem Blut der Bereich zwischen 25 % und 30 % in Frage.

Nicht allein durch zu hohe Hämatokrit-Werte (35 % - 45 %) zu erklären sind die Ergebnisse der vergleichenden Untersuchungen in EDTA - antikoaguliertem Blut. Die mangelhaften Korrelationen sind am ehesten durch Artefakte (nicht ausreichende Antikoagulation durch die mit pulverisiertem EDTA gefüllten Blutprobenröhrchen) zu erklären. Somit kann die Erythrozyten - Aggregationsmethode aus EDTA-Blut unter den genannten Bedingungen die BKS-Methode nach WESTERGREN nicht ersetzen.

Aus der Vergleichenden Untersuchung des Einflusses von Antikoagulans auf die Erythrozyten-Aggregation ergibt sich kein wesentlich neuer Aspekt, vor allem bei Berücksichtigung der Probandenauswahl, nämlich sämtlich gesunde Probanden mit normalen BKS-Werten nach WESTERGREN. Daß sich in EDTA- und Heparin- antikoagulierten Blutproben prinzipiell höhere Aggregationswerte finden, kann nicht nur mit den höheren Hämatokritwerten erklärt werden, da praktisch kein Verdünnungseffekt wie bei Natrium-Citrat-Antikoagulation vorliegt. Gerade die noch stärkere Erythrozyten-Aggregation in Heparin-Blut verglichen zu EDTA-Blut bei nahezu identischen Hämatokrit-Werten macht einen Einfluß des Antikoagulans per se auf die Aggregation der Erythrozyten wahrscheinlich. Unter dem Aspekt des Methodenvergleichs Erythrozyten-Aggregation zur BKS - WESTERGREN - Methode muß klargestellt werden, daß die Aggregationswerte in EDTA- oder Heparin- antikoaguliertem Blut bei Normalprobanden schon großteils im "pathologischen Bereich" liegen, d.h. eine gewisse Trennschärfe gar nicht gegeben sein kann. Die in dieser Versuchsreihe nochmals geprüften Effekte der Lagerungstemperatur bestätigen großteils die vorweg dargestellten Befunde (Ausnahme Heparin) und werden mangels Relevanz nicht weiter diskutiert.

In der Gesamtheurteilung muß festgehalten werden, daß nach dieser vergleichenden Untersuchung diese neue Methode, die hier vorgestellt wurde, durchaus sinnvoll erscheint. Ein gewisses Ziel, das "Screening von Früh- und Neugeboreneninfektionen" ist wohl möglich, scheint aber von der Praktikabilität her schwierig, da gerade bei diesen Probanden der optimale Meßbereich nicht mit den physiologischerweise erhöhten Hämatokrit-Werten übereinstimmt. Dennoch wird eine Erythrozyten-Aggregationsmessung mit Citrat-Antikoagulation - die auch bei Kapillarblut-Entnahme möglich ist - nach den vorliegenden Ergebnissen als aussagekräftig erachtet, wenn über eine Modifikation der Citrat-Antikoagulation mit dem Ziel, einen für die Messung günstigen Hämatokrit-Wert zu erreichen, vorgenommen wird. Hierzu müssen allerdings weitere vergleichende Untersuchungen durchgeführt werden.

F. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die BKS-Methode nach WESTERGREN und die hier vergleichend untersuchte Erythrozyten-Aggregationsmethode (als Mikro-methode) ergeben in Natrium-Citrat-antikoaguliertem Blut gut übereinstimmende Ergebnisse, insbesondere im pathologischen Bereich.
2. Die Verwendung von Heparin und EDTA als Antikoagulans ergab geringe, bzw. keinerlei Übereinstimmung zwischen den beiden Meßmethoden.
3. Lagerungszeiten bis zu 1 1/2 Stunden von Blutentnahme bis zur Messung ergaben keine verfälschten Meßwerte. Damit ist eine Praktikabilität in pädiatrischer ambulanter Betreuung und im pädiatrischen Klinikbetrieb gewährleistet.
4. Der optimale Hämatokritwert für die Erythrozyten-Aggregationsmessung liegt zwischen 25 % und 40%. Dies bedeutet eventuell fehlerhafte Bestimmungen bei extremer Anämie (selten) oder Polyglobulie (physiologischerweise häufig in der Neonatalperiode). Grundsätzlich wird eine Blutverdünnung - wie hier durchgeführt mit Natrium-Citrat als Antikoagulans - unumgänglich sein.
5. Als Kapillarblutmethode speziell bei Früh- und Neugeborenen kann sich die Methode dann eignen, wenn z.B. citrat-vorgefüllte Kapillaren Verwendung finden. Dies ist im Prinzip technisch einfach, allerdings umständlich und zeitaufwendig.

6. Vor Anwendung der hier verwendeten Erythrozyten-Aggregationsmethode besonders als Screening-Methode in der Neonatologie sind weitere vergleichende Studien erforderlich, um die optimale Natrium-Citrat-Verdünnung herauszufinden.
7. Ebenfalls notwendig sind größere Untersuchungsreihen zur Erarbeitung altersspezifischer Normalbereiche für gesunde pädiatrische Patienten von der Neonatalperiode bis zum Schulalter.

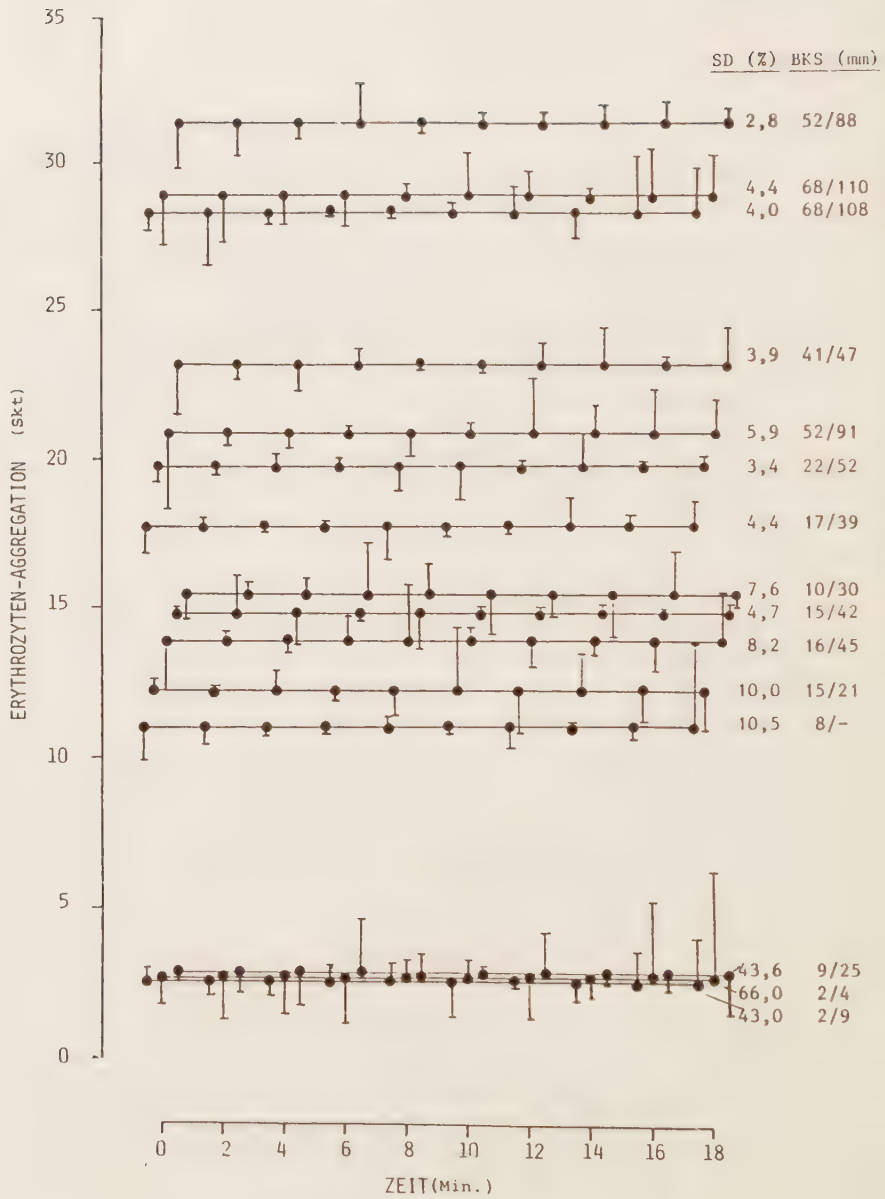


ABBILDUNG 1

Erläuterung siehe Text Seite 13

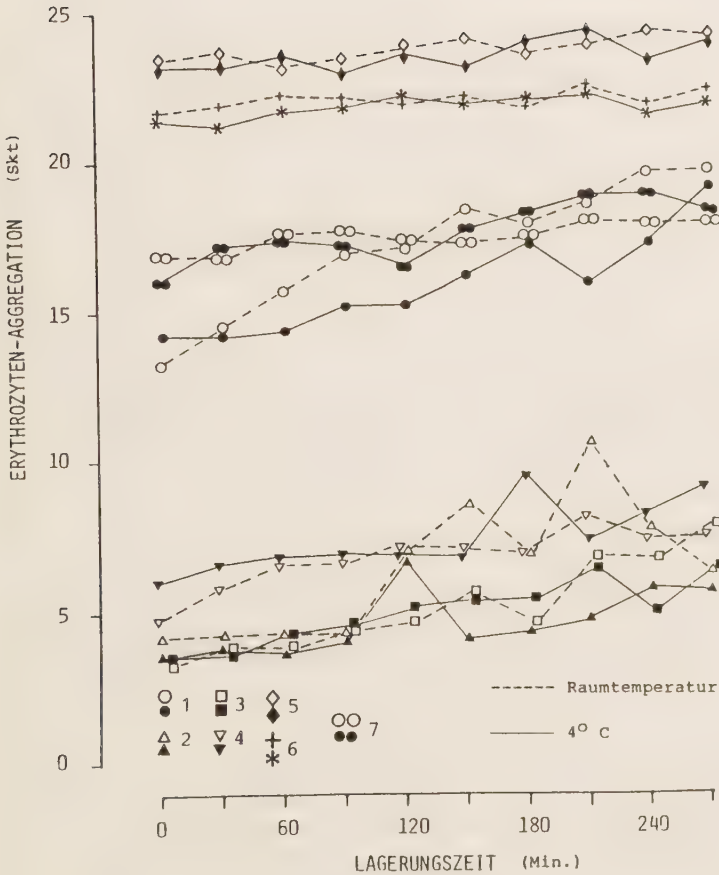


ABBILDUNG 2

Erläuterungen siehe Text Seite 14

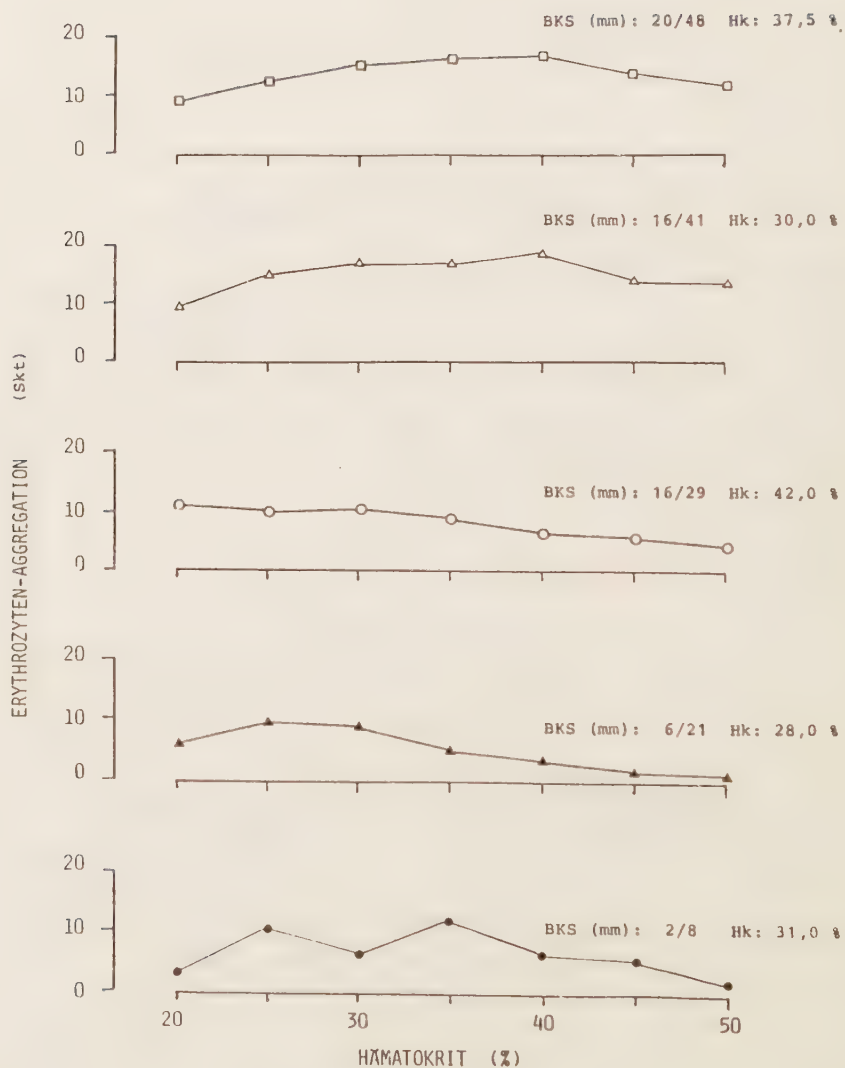
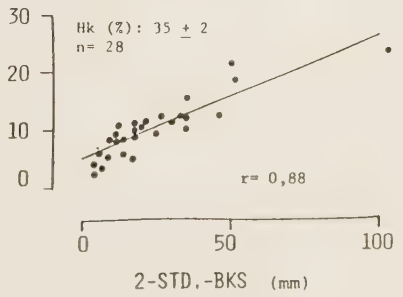
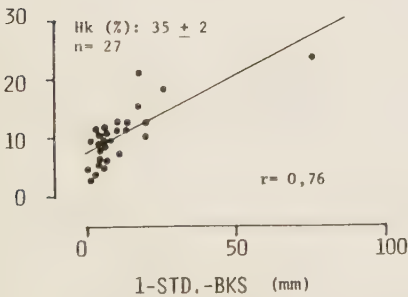
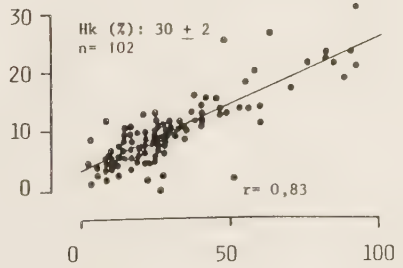
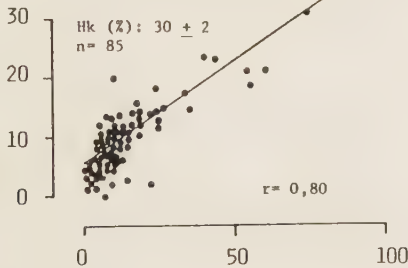
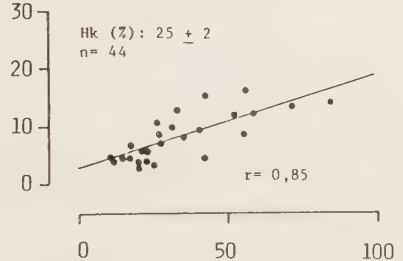
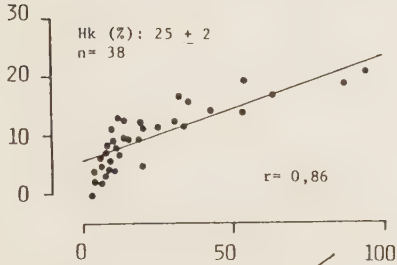
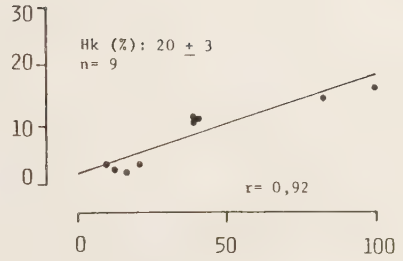
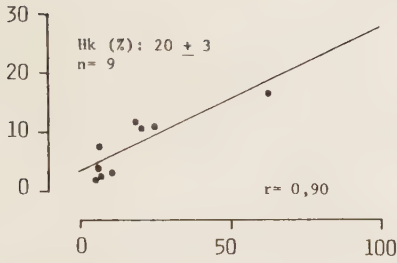


ABBILDUNG 3

Erläuterung siehe Text Seite 15

ERYTHROZYTEN - AGGREGATION (skt)



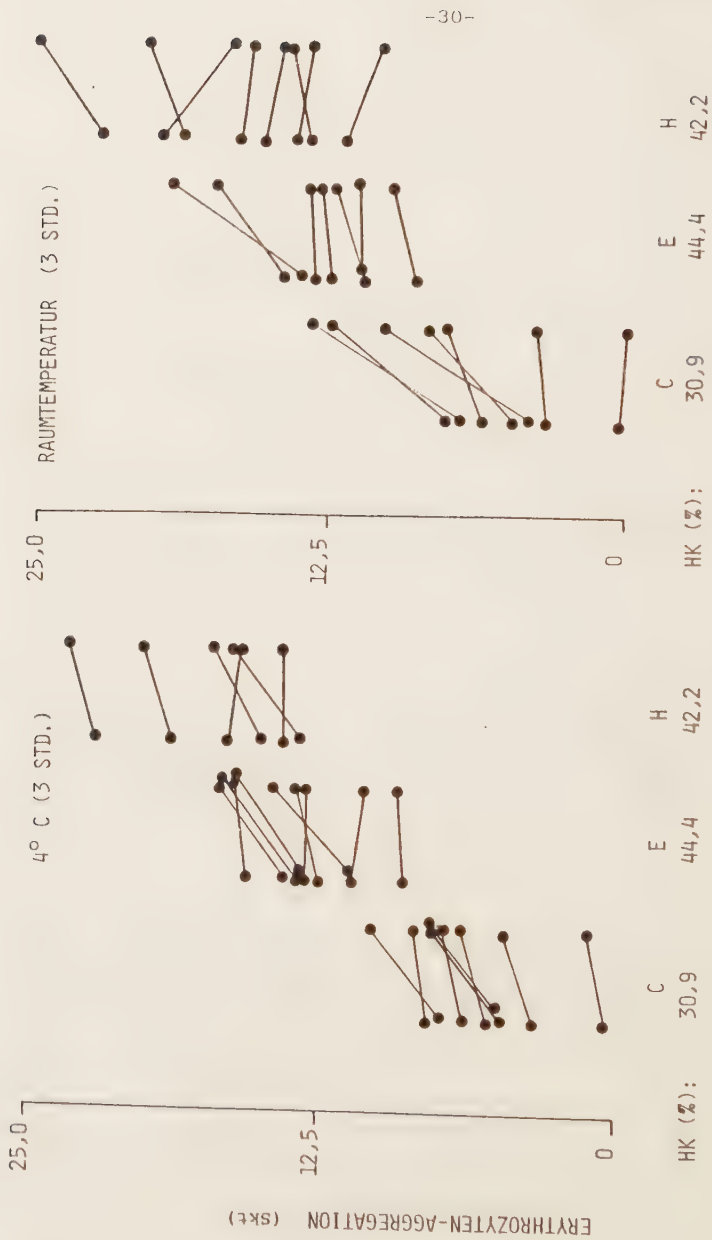


ABBILDUNG 5

Erläuterungen siehe Text Seite 18

H. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ABENDROTH, K.: Die Schnellsenkungsmethode von Matlieff, Erwiderungen. Dtsch. Ges. wesen 21, 338 (1965)
- 2 ADLER, S.M. and R.L.DENTON: The erythrocyte sedimentation rate in the newborn period. J. Pediatr. 86, 942 (1975)
- 3 BIERNACKI, E.: Über die Beziehung des Plasmas zu den rothen Blutkörperchen und über den Werth verschiedener Methoden der Blutkörperchen-Volumenbestimmung. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 19, 179 (1894)
- 4 DOGIEL, J.: Über die Ursache der Geldrollenbildung im Blute des Menschen und der Thiere. Pflügers Arch. ges. Physiol. 3, 222 (1879)
- 5 EHRLY, A.M. und M.M.FINK: Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) bei verschiedenen Hämatokritwerten. Med. Welt 22, 1960 (1971)
- 6 EVANS, H.E., L.GLASS and C.MERCADO: The micro-erythrocyte sedimentation rate in newborn infants. J. Pediatr. 76, 448 (1970)
- 7 FÅHRÅEUS, R.: Hygiea 80, 369 (1918)
- 8 FÅHRÅEUS, R.: The suspension stability of the blood. Acta med. scand. 55, 1 (1921)
- 9 FÅHRÅEUS, R., O.ANDERSON, S.SANDBERG und E.v.EULER: Physikalische Gewebsveränderungen bei Fieber und hyperpyretischen Temperaturen. Acta path. microbiol. scand. 2, 323 (1925)

- 10 FÄHRÅEUS,R.: Strömungsverhältnisse der Blutzellen im Gefäßsystem. Klin. Wschr. 3, 100 (1928)
- 11 FÄHRÅEUS,R.: The suspension stability of the blood. Physiol. Rev. 9, 231 (1929)
- 12 GOLL,K.H.: Vergleich von Methoden zur Bestimmung der Erythrocyten-Sedimentationsgeschwindigkeit. Acta biol. med. germ. 2, 590 (1959)
- 13 HAAN,J.de: Über die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen verschiedener Blutarten im Hinblick auf deren Verwendbarkeit zu Phagozytoseuntersuchungen. Biochem. Z. 86, 298 (1918)
- 14 HEWSON,H.: Experimental equiries. London, Gulliver 1846
- 15 IBSEN,K.K., M.NIELSEN, J.PRAG, H.HORLYK, C.VRANG, B.KORNER and B.PEITERSEN: The value of the micromethod erythrocyte sedimentation rate in the diagnosis of infections in newborns. Scand. J. Infect. Dis., Suppl. 23, 143 (1980)
- 16 JONES,R. and G.WHARTON: Guy's Hosp., Rep. 7, 73 (1851)
- 17 KLOSE,H.J., E.VOLGER, H.BRECHTELSBAUER, L.HEINICH and H.SCHMID-SCHÖNBEIN: Microrheology and light transmission of blood, I. The photometric effects of red cell aggregation and red cell orientation. Pflügers Arch. 333, 126, (1972)
- 18 LANDAU,A.: Microsedimentation. Am. J. Dis. Child. 45, 691 (1933)

- 19 LEMTIS,H. und U.SCHOETENSACK: Ist die Steinsche Variation der Westergrenschen Blutkörperchen-Senkungsmethode zuverlässig? Dtsch. med. Wschr. 92, 2356 (1967)
- 20 LINZENMEIER,G.: Über Mikrosedimetrie. Münch. Med. Wschr. 72, 5 (1925)
- 21 LINZENMEIER,G. und H.EYER: Ein Beitrag zur Blutsenkungsgeschwindigkeit unter Mitteilung einer verbesserten Kapillarmethode. Münch. Med. Wschr. 81, 174 (1934)
- 22 MATLIEFF,D.: Persönliche Mitteilung, zit. in Beiträge zur Rheumatologie, Bd. VI, 38 (1961)
- 23 MOODLEY,G.P.: The micro-erythrocyte sedimentation rate in Black neonates and children, Part I. S. Afr. Med. J. 59, 943 (1981)
- 24 MOODLEY,G.P.: The micro-erythrocyte sedimentation rate in Black neonates and children, Part II. S. Afr. Med. J. 60, 545 (1981)
- 25 NASSE,H.: Das Blut. Bonn 1836
- 26 PARIDA,S.N., I.C.VERMA, M.B.SINGH and S.THOMAS: Evaluation of micro erythrocyte sedimentation rate in the diagnosis of neonatal sepsis. Indian J. Pediatr. 47, 381 (1980)
- 27 PHILIPS,A.G.S. and J.R.HEWITT: Early diagnosis of neonatal sepsis. J. Pediatr. 65, 1036 (1980)
- 28 ROBIN,D.: J. Physiol. par. Brown-Sequard 1, 283 (1858)

- 29 SMITH,C.H.: A method for determining the sedimentation rate and red cell volume in infants and children with the use of capillary blood. Amer. J. Med. Sci. 192, 73 (1936)
- 30 STEIN,W.: Blutsenkungen im 10-Minuten-Verfahren. Med. Wschr. 3, 919 (1949)
- 31 STRUMIA,M.M., A.B.SAMPLE and E.D.HART: An improved micro hematocrit method. Am. J. clin. Path. 24, 1516 (1954)
- 32 TAEUBNER,W.: Dtsch. Ges. wesen 9, 282 (1954)
- 33 WASHBURN,A.H. and A.J.MEYERS: The sedimentation of erythrocytes at an angle of 45 degrees. J. Lab. clin. Med. 49, 318 (1957)
- 34 WESTERGREN,A.: Dtsch. med. Wschr. 49, 218 (1923)
- 35 WESTERGREN,A.: Die Senkungsreaktion. Ergebn. inn. Med. Kinderheilkunde 26, 577 (1924)
- 36 WESTERGREN,A.: Acta med. Scand. 16 supp. (1925)
- 37 WESTERGREN,A.: Karlsbader ärztl. Vorträge (1927)
- 38 WESTERGREN,A., G.THEORELL und A.WIDSTRÖM: Plasmaeiweiß, Blutlipide, Erythrocyten und Senkungsreaktion. Z. exper. Med. 75, 668 (1931)
- 39 WESTERGREN,A.: Acta med Scand. 139, 214 (1951)
- 40 WILTSHIRE,H.: An investigation into the cause of rouleaux formation by human red blood corpuscles. J. Path. Bact. 17, 282 (1912)

- 41 WINTROBE, M.M. and J.W. LANDSBERG: A standardized technique for the blood sedimentation test. Amer. J. med. Sci. 189, 102 (1935)

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof.Dr.H.B.Hadorn für die Überlassung des Themas und für die Möglichkeit der Durchführung der Untersuchungen an der Universitäts-Kinderklinik herzlich danken.

Mein spezieller Dank geht an Herrn PD Dr.H.J.Klose, der mich immer freundlich und verständnisvoll beraten und unterstützt hat und der für mich eine große Hilfe bei der Durchführung dieser Arbeit war.

Besonders danken möchte ich den Mitarbeitern im Pflegebereich und in den Labors für Hämatologie und Blutgerinnung für ihre aufgeschlossene Mithilfe unter der Leitung von Prof.Dr.Frank Bidlingmaier.

Weiters geht mein Dank auch an Frau M.Günthner und Frau A. Prause, deren technische Hilfe eine wertvolle Unterstützung für mich bedeutete.

I. LEBENS LAUF

Am 23.7.1950 wurde ich als dritte Tochter des Fotografen Franz Leeb und seiner Frau Anna, geb. Koch, in Linz/Oberösterreich geboren. Nach Umzug meiner Familie nach Salzburg besuchte ich von 1956 bis 1960 die Volksschule und wechselte dann auf das Wirtschaftskundliche Bundesrealgymnasium, das ich 1968 mit dem Ablegen der Reifeprüfung mit Auszeichnung verließ.

Im Herbst 1968 begann ich in Wien eine Ausbildung zur Medizinisch-technischen Assistentin, die ich im Dezember 1970 durch Ablegen der Diplomprüfung erfolgreich abschloß.

Von Februar 1971 bis November 1977 arbeitete ich als Laborleiterin im Hämatologischen Labor der Universitäts-Kinderklinik im Dr.v.Haunerschen Kinderspital in München.

1976 erhielt ich auf meinen Wunsch hin die deutsche Staatsangehörigkeit.

Im November 1977 begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilian-Universität in München, das ich dort mit dem Ablegen des Staatsexamens im Frühjahr 1983 beendete.

Von Juni 1983 bis Februar 1985 war ich in der Abteilung für Zahnerhaltung und Parodontologie der Zahnklinik der Universität München und von März 1985 bis April 1986 in einer Praxis in München als Assistentin beschäftigt.

Im Juli 1986 eröffnete ich eine eigene Praxis in München.

